

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



EFFECTO DE LA LIPASA EXÓGENA SOBRE EL TEJIDO ADIPOSO  
SUBCUTÁNEO EN UN MODELO ANIMAL PORCINO

Por

DR. JOSÉ CARLOS CANSECO CAVAZOS

Como requisito para obtener el grado de  
Sube1peclall1ta en CIRUG(A PLÁSTICA, ESTÉTICA, Y  
RECONSTRUCTIVA

Diciembre 2018

EFFECTO DE LA LIPASA EXÓGENA SOBRE EL TEJIDO ADIPOSEO  
SUBCUTÁNEO EN UN MODELO ANIMAL PORCINO.

Aprobación de la tesis:



---

Dr. Iram Zeyn González Vargas  
Director de la tesis



---

Dr. med. Yanko Castro Góvea  
Coordinador de Enseñanza



---

Dr. MCM. Gabriel Angel Mecott Rivera  
Coordinador de Investigación



---

Dr. med. Mauricio Manuel García Pérez  
Jefe de Servicio o Departamento



---

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez  
Subdirector de Estudios de Posgrado

## TABLA DE CONTENIDO

| Capítulo I            | Página |
|-----------------------|--------|
| 1. RESÚMEN            | 1      |
| Capítulo II           |        |
| 2. INTRODUCCIÓN       | 5      |
| Capítulo III          |        |
| 3. HIPÓTESIS          | 13     |
| Capítulo IV           |        |
| 4. OBJETIVOS          | 14     |
| Capítulo V            |        |
| 5. MATERIAL Y MÉTODOS | 15     |
| Capítulo VI           |        |
| 6. RESULTADOS         | 26     |
| Capítulo VII          |        |
| 7. DISCUSIÓN          | 29     |
| Capítulo VIII         |        |
| 8. CONCLUSIÓN         | 35     |
| Capítulo IX           |        |
| 9. ANEXOS             | 37     |

Capítulo X

|                  |    |
|------------------|----|
| 13. BIBLIOGRAFIA | 51 |
|------------------|----|

Capítulo XI

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 14. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO | 55 |
|----------------------------|----|

## ÍNDICE DE TABLAS y GRÁFICOS

| Tabla   | Página |
|---|--------|
| 1. Signos clínicos indicativos de dolor en el cerdo _____               | 37     |
| 2. Monitorización post-operatoria diaria _____                          | 37     |
| 3. Escala de evaluación del dolor tras cirugía _____                    | 38     |
| 4. Número de células por cuadrante _____                                | 39     |
| 5. Tabla de promedios y medidas de tendencia central y dispersión _____ | 40     |
| 6. Variables descriptivas por grupos _____                              | 40     |
| 7. Comparación intragrupal (lipasa vs. controles) _____                 | 41     |
| 8. Comparación intergrupala (distintas concentraciones de lipasa) _____ | 41     |

| Gráfico   | Página |
|---|--------|
| 1. Gráfica de número de células por grupo _____ | 42     |

## ÍNDICE DE FIGURAS E IMÁGENES

| Figura  | Página |
|---|--------|
| 1. Marcaje del dorso del cerdo _____                      | 43     |
| 2. Grupos 1, 2, y 3 _____                                 | 44     |
| 3. Jeringa de 1 ml con aguja 25G x 16mm _____             | 45     |
| 4. Punto de inyección y marcaje de sitio de biopsia _____ | 45     |
| 5. Inyección subcutánea _____                             | 46     |
| 6. Marcaje en huso (toma de biopsia) _____                | 46     |
| 7. Profundidad de la toma de biopsia _____                | 47     |
| 8. Cierre de herida con puntos simples de nylon 1/0 _____ | 47     |

| Imágenes  | Página |
|---|--------|
| 1. Area pre y postquirúrgica _____                                      | 48     |
| 2. Mesa quirúrgica _____  | 48     |
| 3. Area pre y postquirúrgica _____                                      | 48     |
| 4. Sustancias a inyectar _____  | 49     |
| 5. Microscopio Nikon Eclipse 50i _____                                  | 49     |
| 6. Imagen de grupo de lipasa vs. imagen de grupo control negativo _____ | 50     |
| 7. Imagen de grupo de lipasa vs. imagen de grupo control positivo _____ | 50     |

## LISTA DE ABREVIATURAS

•d lbttum: a libre demanda.

ASOS: American Society of Dermatologic Surgery.

ASPS: American Society of Plastic Surgeons.

ATGL: lipasa adiposa de triglicéridos.

cm: centímetros.

C(+): control positivo.

C(-): control negativo.

FDA: US Food and Drug Administration.

FMVZ: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

G: gauge.

gr.: gramos.

HSL: lipasa sensible a hormona.

Im: intramuscular.

IMC: Índice de masa corporal.

kg.: kilogramos.

L: litros.

m<sup>a</sup>.: metros cuadrados.

mg.lkg.: miligramos por kilogramo.

MGL: monoacilglicerol lipasa.

min.: minutos.

ml.: mililitros.

mm.: milímetros.

MVZ: médico veterinario zootecnista.

Jm.: micrómetros.

NOM: Norma Oficial Mexicana.

PFA: paraformaldehído.

seg.: segundos.

UANL: Universidad Autónoma de Nuevo León.

U.I.: unidades internacionales.

1x: 5ml de suero fisiológico en un vial de lipasa exógena.

5x: 1 ml de suero fisiológico en un vial de lipasa exógena.

10x: 1 ml de suero fisiológico en dos viales de lipasa exógena.



## RESÚMEN.

## INTRODUCCIÓN.

Una de las técnicas utilizadas para tratar la obesidad o lipodistrofia corporal mediante la reducción de grasa localizada, es la mesoterapia, en ocasiones considerada como una alternativa a la liposucción. La mesoterapia, es una técnica mínimamente invasiva que consiste en la inyección localizada, a nivel intradérmico o subcutáneo (tejido adiposo y conectivo debajo de la piel), de distintas sustancias. Los mecanismos de acción de la disminución de grasa gracias a la mesoterapia son: estimulación de lipólisis, llamada mesoterapia lipolítica, o mediante destrucción del tejido adiposo debido a un efecto detergente, denominada mesoterapia ablativa. El producto mayormente utilizado en la mesoterapia es la fosfatidilcolina aunada a desoxicolato de sodio, también conocido como ácido desoxicólico. La lipasa es conocida como una de las principales enzimas lipolíticas encargadas de la movilización de la grasa. Se ha aprobado el uso cosmético de lipasa exógena de forma tópica y ha sido utilizada para la movilización de la grasa y el tratamiento de la celulitis. La lipasa PB500, comercializada con el nombre PBSerum Slim+® disuelve de forma selectiva los lípidos acumulados en los adipocitos, movilizand

responsable de la celulitis. No existe evidencia científica del efecto que podría tener al ser inyectada en el tejido adiposo subcutáneo y específicamente en los adipocitos, en el ser humano.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

Estudio experimental, Longitudinal, Prospectivo y Comparativo. Evaluación cegada. Para nuestra población de estudio se utilizaron 3 cerdos (27 muestras en total). La selección de los cerdos participantes se realizó en el Biotério del Laboratorio de Inmunología Veterinaria de la FMVZ de la UANL, según los estándares de la Norma Oficial Mexicana (NOM) 06-200-1999. Descripción del diseño: *Día 0*: Se rasuró el dorso de los cerdos; se marcaron zonas de 4 x 4 cm. en el dorso; en una primera hilera, se aplicó a nivel subcutáneo 1 ml de lipasa exógena a concentración 1x (Grupo 1); en una segunda hilera, se aplicó 1 ml. de lipasa exógena a concentración 5x (Grupo 2); en una tercera hilera, se aplicó 1 ml. de lipasa exógena a concentración 10x (Grupo 3); como control negativo, se aplicó 1 ml. de suero fisiológico en cada una de las hileras; como control positivo, se aplicó 1 ml. de fosfatidilcolina en cada una de las hileras. *Día 3*: Se tomaron biopsias de piel y tejido celular subcutáneo (hasta fascia) de cada sitio de inyección, se enviaron las muestras al Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la UANL para su procesamiento. Una vez obtenidos los cortes, se seleccionó la laminilla más representativa de cada región, teñida con hematoxilina y eosina. Se tomaron, de cada laminilla, cinco

fotografías digitales a un campo de aumento de 20x, y cada fotografía se dividió en cuadrantes, Y se seleccionó uno de ellos para su análisis.

### OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto de la inyección de lipase exógena en el tejido adiposo subcutáneo en un modelo animal porcino.

### RESULTADOS.

En el grupo 1 se obtuvo una media de 47.80, 27.26, y 34.66 para lipase 1x, control negativo, y control positivo respectivamente. En el grupo 2 se obtuvo una media de 36.06, 24.13, y 33.20 para lipasa 5x, control negativo, y control positivo respectivamente. En el grupo 3 se obtuvo una media de 40.06, 29.26, y 32.66 para lipasa 10x, control negativo, y control positivo respectivamente. Al realizar la comparación intergrupar entre las distintas concentraciones de lipasa (1x, 5x, y 10x), se obtuvo una significancia de  $p < 0.05$ , sin embargo, no fue una correlación lineal positiva. Estos resultados nos indican, además, que las células fueron de menor tamaño en los grupos de lipasa (1x, 5x, y 10x).

En cuanto al grado de inflamación, se observó como en los tres grupos {lipasa 1x, lipasa 5x, y lipasa 10x}, no se presentó inflamación o fue prácticamente nula, por lo cual se cuantificó como ausente o leve. Finalmente en cuanto al grado de adipocitos lisados o pérdida de arquitectura celular, se observó como en los tres grupos, no se presentó lisis o fue prácticamente nula, por lo cual se cuantificó igualmente como ausente o leve.

## CONCLUSIONES.

Se obtuvo una disminución del tamaño y mayor número de células en los grupos de lipasa exógena en comparación con su controles negativos y positivos, con una significancia estadística de  $p < 0.05$ , y aunque se obtuvo una significancia de  $p < 0.05$  al comparar las tres concentraciones de lipasa entre sí (lipasa 1x, lipasa 5x, y lipasa 10x), no hubo una correlación lineal positiva entre las mismas. Además no se evidenciaron datos de inflamación y/o pérdida de la arquitectura celular en los grupos de lipasa exógena, contrastando con los controles positivos (fosfatidilcolina), en los cuales si se encontraron datos de inflamación (hemorragia, células inflamatorias), asociada a pérdida de la arquitectura celular o lisis de los adipocitos.

## INTRODUCCIÓN.

México se encuentra dentro de los primeros cinco lugares a nivel mundial en la realización de procedimientos quirúrgicos y no quirúrgicos de cirugía estética. La demanda de procedimientos no quirúrgicos ha aumentado con el paso de los años<sup>2</sup>. Dentro de las patologías con más demanda de procedimiento estéticos, se encuentra, el sobrepeso (índice de masa corporal (IMC) 25 - 29.9); la obesidad (IMC  $\geq$  30); y la celulitis, que consiste en alteraciones en el tejido adiposo, la microcirculación sanguínea y linfática con fibroesclerosis del tejido conectivo, que da lugar a un aspecto irregular de la piel, teniendo como principales manifestaciones la flacidez o apariencia de "piel de naranja". La reducción de grasa localizada y el tratamiento de la celulitis se encuentran en el sexto y noveno lugar a nivel mundial, respectivamente, y dentro de los cinco procedimientos de cirugía estética más realizados en México<sup>1</sup>.

Una de las técnicas utilizadas para tratar la obesidad o lipodistrofia corporal mediante la reducción de grasa localizada, además del tratamiento de la celulitis, es la mesoterapia, en ocasiones considerada como una alternativa a la liposucción<sup>3</sup>. La mesoterapia fue introducida inicialmente por el doctor francés Michel Pistor en 1952, quien, en un intento por tratar a un paciente con asma, inyectó procaina subcutánea. El asma del paciente no mejoró, pero la sordera



que padecía si lo hizo. Concluyó que la inyección de procaina en tejidos subcutáneos tenía efectos benéficos en la salud... En 1958, Pistor publicó su primer trabajo en la edición no. 44 de la "Presse Médicale" en donde la palabra "mesoterapia" apareció por primera vez. Pistor y Lebel experimentaron con el uso de distintas mezclas de medicamentos en muchas patologías.

La mesoterapia es una técnica mínimamente invasiva que consiste en la inyección localizada, a nivel intradérmico o subcutáneo (tejido adiposo y conectivo debajo de la piel), de distintas sustancias. Habitualmente se usan agujas de hasta 12 milímetros (mm.) mediante inyecciones perpendiculares utilizando distintos ángulos de aplicación dependiendo de la profundidad requerida de inyección. Se describen múltiples aplicaciones de la mesoterapia como son el tratamiento de alteraciones músculo-esqueléticas (neuralgias, tendinitis, artritis), del sistema vascular (linfedema, edema venoso) y rejuvenecimiento facial. Sin lugar a duda, el campo más amplio para su aplicación es en el tratamiento de grasa localizada, celulitis, lipomas y pérdida de peso. La reducción de grasa en un área preferencial no es posible en condiciones normales debido a cuestiones de género, herencia, fisiológicas, entre otras. Los mecanismos de acción de la disminución de grasa gracias a la mesoterapia son: estimulación de lipólisis, llamada mesoterapia lipolítica, o mediante destrucción del tejido adiposo debido a un efecto detergente, denominada mesoterapia ablativa. Existen múltiples sustancias que se utilizan en la mesoterapia, dentro de las cuales destacan los vasodilatadores, antiinflamatorios no esteroideos, enzimas, nutrientes, antibióticos, hormonas, entre otros. El producto mayormente utilizado en la mesoterapia es la

fosfatidilcolina aunada a desoxicolato de sodio, también conocido como ácido desoxicólico<sup>7</sup>. Sin embargo, hoy en día, en los Estados Unidos, existe muy poca literatura en publicaciones médicas con respecto a la seguridad, eficacia y mecanismo de acción de la mesoterapia como modalidad terapéutica<sup>3</sup>. No existe información sobre la formulación o mezcla del producto a inyectar, la dosis, la técnica, la frecuencia entre sesiones, y la toxicidad, sino que dependerá en cada caso del criterio médico<sup>3</sup>.

Actualmente, solamente el desoxicolato de sodio o ácido desoxicólico (Kybella® Kythera Biopharmaceuticals, Inc.) ha sido aprobado por la US Food and Drug Administration (FDA) para su uso en mesoterapia (inyección subcutánea) como tratamiento para la reducción de grasa localizada, y/o celulitis en la región submentoniana<sup>a</sup>.

La búsqueda durante años de un tratamiento para eliminar grasa localizada y que pudiera utilizarse como tratamiento alternativo a la liposucción, condujo al uso de diversas sustancias con funciones lipolíticas<sup>7</sup>. La lipasa es conocida como una de las principales enzimas lipolíticas encargadas de la movilización de la grasa. La interacción de distintas hormonas provoca la activación de lipasas intracelulares las cuales producen la hidrolización de los lípidos. Las tres enzimas mayormente conocidas encargadas de la ruptura del tejido adiposo son: la lipasa adiposa de triglicéridos (ATGL), la lipasa sensible a hormona (HSL) y la monoacilglicerol lipasa (MGL). De manera fisiológica, la ATGL y HSL son las principales enzimas lipolíticas del tejido adiposo y no adiposo para la movilización de los ácidos grasos. La ATGL es la enzima responsable en el primer paso de la movilización de triglicéridos generando ácidos grasos y

diacilglicerol. Mientras que HSL degrada el diacilglicerol y el último paso de hidrólisis del glicerol es mediado por la MGL. Cada paso suministra intermediarios metabólicos que actúan como precursores para distintas vías metabólicas y de regulación de genes<sup>9</sup>.

Se ha aprobado el uso cosmético de lipasa exógena de forma tópica y ha sido utilizada para la movilización de la grasa y el tratamiento de la celulitis. La lipasa PB500 es una enzima termoestable con una potente actividad lipolítica. Es de origen bacteriana (esterasa bacteriana *T. thermophilus* HB27), y se encuentra comercializada con el nombre PBSerum Slim+® por Laboratorios PROTEOS Biotech S.L. (Albacete, España). Se ha utilizado en conjunto con ácido hialurónico como base, el cual actúa hidratando la piel y promoviendo un aspecto terso y suave<sup>10</sup>. PBSerum Slim+® disuelve de forma selectiva los lípidos acumulados en los adipocitos, movilizandolos la grasa responsable de la celulitis<sup>0</sup>. En un estudio valorando dicho producto, se dio tratamiento a 17 pacientes de sexo femenino mediante electroporación dos veces por semana durante 4 semanas. Se evaluó de manera visual y a través de medidas perimétricas del área tratada. Los resultados mostraron disminución del grado de celulitis en 53% de los casos, reducción del perímetro de la zona tratada en el 76%, mejora de la apariencia de celulitis en el 82% y mejora del aspecto de la piel en el 100%<sup>11</sup>.

No se han reportado casos del uso de lipasa exógena en mesoterapia. El primer caso de la inyección de lipasa fue reportado por Khoo et. al. en el 2010. Un paciente femenino de 22 años de edad se presentó con pirexia y dos grandes masas bilaterales en la cara medial de los brazos cuatro días



posteriores a la auto-inyección de lipasa en polvo (Lipomod\_36P, Biocatalysts, Wales, UK) destinada a su consumo por vía oral. Los hallazgos fueron sugestivos de licuefacción y necrosis grasa <sup>12</sup>.

La búsqueda de un tratamiento no quirúrgico para eliminar grasa localizada y la celulitis condujo al uso de diversas sustancias con funciones lipolíticas, por ejemplo, la lipasa exógena. Sin embargo, no existe evidencia científica del efecto que podría tener al ser inyectada en el tejido adiposo subcutáneo Y específicamente en los adipocitos, en el ser humano. Por lo tanto, para la determinación de dichos efectos se propuso un modelo animal porcino que nos permitió evaluar el uso a futuro del producto como procedimiento estético no quirúrgico en la reducción de grasa localizada y en el tratamiento de la celulitis.

Este fue el primer estudio que evalúa el efecto de la inyección subcutánea de lipasa exógena en el tejido adiposo subcutáneo, y su posterior uso de forma segura en humanos.

Justificación del uso de un modelo animal porcino.

En términos generales, la experimentación animal posee una serie de ventajas: en primer lugar, es posible elegir las especies y las subespecies más adecuadas para la experimentación, utilizando un número de animales suficientemente grande como para efectuar un análisis estadístico y completar los estudios en un corto período. Una segunda razón es la posibilidad de controlar las variables experimentales Y valorar cada una de ellas de forma independiente del resto de los factores, seleccionando animales sanos o con

anormalidades genéticas de características bien contrastadas en los que se pueden combinar factores de riesgo y enfermedades concurrentes. Por otro lado, el uso de animales es la única vía para desarrollar nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento, tanto preventivos como reparadores, antes de aplicarlos a la especie humana. Por último, esta utilización de modelos animales permite trabajar en las condiciones ideales en cuanto a la posibilidad de elección de especie, tiempo y método de estudio, y facilita igualmente analizar el efecto de diferentes planteamientos experimentales en el animal, tanto vivo como muerto, así como la obtención de todo tipo de muestras<sup>13</sup>.

El modelo ideal para uso en investigaciones científicas sería aquel que se asemejase al ser humano en sus características fisiológicas, anatómicas y orgánicas, lo que conduce a una adecuada eficiencia de las conclusiones obtenidas<sup>14</sup>.

Es un animal domesticable, de crecimiento rápido y reproducción numerosa<sup>15</sup>. El cerdo posee una serie de rasgos interesantes comparables con los de la especie humana: es omnívoro, presenta hábitos sedentarios y propensión a la obesidad, y muchos de sus órganos son de un tamaño similar<sup>13</sup>. Según Bustard y McClellan, el cerdo presenta similitudes con el hombre en lo que respecta a la odontología, morfología y fisiología renal, agudeza visual, estructura del ojo, fisiología y morfología de la piel, fisiología y anatomía cardiovascular, digestiva e inmunológica. Según Tumbleson, el cerdo es un modelo eficaz para estudios en investigaciones biomédicas, pues, además de presentar estructura y funciones semejantes al ser humano, presenta trónculo de alimentación, fisiología digestiva, hábitos de alimentación y similaridad con el tamaño humano.

dietéticos, estructura y funciones del riñón, estructura vascular del pulmón, distribución de las arterias coronarias, propensión para la obesidad, frecuencia respiratoria y comportamiento social, siendo un modelo animal flexible para determinar las exposiciones crónicas y agudas al alcohol, cafeína, tabaco, aditivos alimenticios y poluentes del ambiente. Presenta una gran reserva de grasa, facilitando el aislamiento del tejido adiposo<sup>14</sup>. El cerdo es un modelo animal adecuado para estudiar la adipogénesis y lipogénesis durante el desarrollo del tejido adiposo<sup>16</sup>. A finales de los años ochenta, el cerdo empezó a ser considerado un buen modelo para el estudio del metabolismo lipoproteico. En este sentido, el cerdo posee una distribución lipoprotéica similar a la encontrada en humanos. Asimismo, debido a las similitudes anatómicas y fisiológicas y en su reactividad farmacológica, el cerdo es un animal especialmente recomendado para el desarrollo de nuevos procedimientos terapéuticos y quirúrgicos<sup>13</sup>. La genética entre estos animales y los humanos también tiene muchos puntos en común, tal y como se puso de manifiesto en 2012 con la primera secuenciación del genoma de una especie porcina<sup>15</sup>. En su contra, hay que mencionar que el costo de su mantenimiento y estabulación resultan prohibitivos para muchos laboratorios<sup>13</sup>, además, hay que tener en cuenta que es de naturaleza muy lábil y sensible a las situaciones de estrés, por lo que su manejo debe ser cuidadoso para evitar la muerte del animal durante su preparación o alguna intervención<sup>15</sup>.

El cerdo ha sido el modelo de elección para cirugía plástica y reconstructiva, toxicología transcutánea, y curación de heridas. La piel del cerdo tiene una estructura similar a la humana, con relativamente poco cabello, una

relación epidermis-dermis Y grosor epidérmico similar, componente subcutáneo fijo, además de similitudes en el riego sanguíneo cutáneo, la composición del colágeno dérmico y la respuesta física y molecular a varios factores de crecimiento<sup>17</sup>. El cerdo también tiene tendencia a desarrollar cantidades substanciales de grasa subcutánea<sup>18</sup>.

## HIPÓTESIS.

- a) Hipótesis de trabajo: La lipasa exógena administrada de manera inyectable, afecta al tejido adiposo subcutáneo en un modelo animal porcino.
- b) Hipótesis nula: La lipasa exógena administrada de manera inyectable, no afecta al tejido adiposo subcutáneo en un modelo animal porcino.



## IV

### OBJETIVOS.

- a) Objetivo general: Determinar el efecto de la inyección de lipasa exógena en el tejido adiposo subcutáneo en un modelo animal porcino.
- b) Objetivos específicos:
  - a) Determinar el efecto de la lipasa exógena sobre el contenido lipídico del tejido adiposo subcutáneo, en un modelo animal porcino.
  - b) Determinar si la administración de lipasa exógena induce inflamación sobre el tejido adiposo subcutáneo, en un modelo animal porcino.
  - e) Determinar si la administración de lipasa exógena produce pérdida de la arquitectura celular del tejido adiposo subcutáneo, en un modelo animal porcino.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

### DISEÑO METODOLÓGICO DEL ESTUDIO.

Experimental, Longitudinal, Prospectivo y Comparativo. Evaluación cegada.

### POBLACIÓN DE ESTUDIO.

#### *Ambito del estudio:*

- Laboratorio de Inmunología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ).
- Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

#### *Selección de la muestra:*

- 3 cerdos (27 muestras en total).
- No probabilística por conveniencia, debido a ser una prueba de concepto.

*período de estudio:*

- Junio de 2018 a Noviembre de 2018.

*Criterios de inclusión:*

- Cerdo hembra.
- Recién destetados (4 meses de edad).
- Raza: Landrace.
- Peso: 14 kilogramos (kg.), en promedio.

*Criterios de exclusión:*

- Enfermedad de cualquier tipo.
- Alergia conocida a algún componente del producto.
- Herida o infección cerca del sitio de inyección.

*Criterios de eliminación:*

- Cerdos que no se pueda tomar biopsia en el período indicado en el protocolo por causas ajenas al estado de salud de los mismos.

*Selección y alojamiento de los cerdos:*

La selección de los cerdos participantes se realizó en el Biotério del Laboratorio de Inmunología Veterinaria de la FMVZ de la UANL. Se realizó una exploración física por parte de un médico veterinario zootecnista (MVZ) certificado, para corroborar el cumplimiento de las características necesarias.



para el estudio, durante el cual fueron supervisados por médicos veterinarios según los estándares de la Norma Oficial Mexicana (NOM) 06-Z00-1999.

El alojamiento estuvo ubicado en el Centro de Exposiciones Agropecuarias del campus de Ciencias Agropecuarias de la UANL. Antes y después del protocolo el alojamiento fue desinfectado con una solución de fenol al 30/0. Para el protocolo se utilizó un corral para cada animal, estos se encuentran ubicados en instalaciones exteriores, con ventilación y protección en caso de climas extremos. Cada corral cuenta con un espacio de 0.75 metros cuadrados ( $m^2$ ), dos comederos de material anticorrosivo con medidas de 20 a 40 centímetros (cm.), piso antiderrapante de cemento y barrotes de metal; adicionalmente se les proporcionó una cama de aserrín que brinda un mejor confort. La alimentación fue 3 veces al día con alimento Pigtech Bio-Nova 2 de Marca Purina, se dio una porción diaria de aproximadamente 1,80 kg.. Se les administró agua potable en cantidad *ad libitum*. Se realizó una limpieza de las instalaciones dos veces al día, en la cual fueron retiradas las excretas y parte de la cama que se encontró húmeda a causa de la orina. Los animales fueron observados por un periodo de media hora antes y después de la alimentación y fueron mantenidos en periodos luz/oscuridad de 12 horas.

Además se utilizaron las instalaciones quirúrgicas (prequirúrgica, quirúrgica, y postquirúrgica) de la FMVZ de la UANL, para la manipulación y procedimientos realizados en los cerdos (*ver imagen 1, 2, y 3*).

### *sedación Y Anestesia de los cerdos:*

Antes de realizar el procedimiento se dio un ayuno de 6 horas como mínimo, únicamente de alimento. Una vez inmovilizado el animal, se procedió a realizar la punción vía intramuscular (IM) en la región lateral del cuello posterior a la oreja (a la altura de los músculos trapecio y cleidooccipital). Se usó una aguja calibre 16 gauge (G) 1% y una jeringa de 3 mililitros (ml.). Como sedante se usó Xilacina al 10% (Procin Equus®) en dosis de 2 - 3 miligramos por kilogramos (mg./kg.) de peso.

Una vez realizada la sedación, se administró el agente anestésico tiletamina y zolacepam (Zoletil®) vía IM en una dosis de 4 - 7 mg./kg., la región de aplicación fue la misma que la usada en la sedación. Una de las ventajas que brinda el uso de Procin Equus® con Zoletil® es la potencialización de este último, logrando un manejo más sencillo, generando un estrés mínimo y una depresión cardiovascular y respiratoria muy inferiores a las observadas con otros fármacos, cabe destacar que esta combinación logra una analgesia corta y buena relajación muscular, logrando un plano anestésico por un corto periodo de tiempo (10-20 minutos (min.)), ideal para el procedimiento que se realizó.

Se contó con un MVZ titulado en todo momento quien realizó el monitoreo de la anestesia, según los siguientes parámetros:

- **Función Cardiovascular:** Se realizó el monitoreo a través del control de los siguientes signos vitales: color de membranas mucosas, pulso arterial, frecuencia y ritmo cardíaco, tiempo de llenado capilar y presión arterial.

una de las capas más superficiales de la piel, donde hay tejido adiposo (grasa) (ver figura 5). Con técnica estéril Y previa asepsia del sitio a inyectar con solución antiséptica (Microdacyn60®) durante 30 segundos (seg.), se procedió a realizar la inyección colocando la aguja en un angulo de 45° grados con respecto a la piel. Inyectando de manera lenta el liquido y posteriormente sacando la aguja una vez terminada la inyección. Posteriormente se desechó el material utilizado en los contenedores pertinentes.

#### *Procedimiento para la toma de biopsia de piel de los cerdos:*

Se tomaron biopsias de piel y tejido celular subcutáneo (hasta fascia) de cada sitio de inyección. Se utilizó el sitio de marcaje previo (4x4 cm.), y se marco una zona de 2x2 cm. con el punto de inyección como punto central (ver figura 4), posteriormente se completó el marcaje en forma de huso, abarcando la zona de 2x2 cm. previamente marcada (ver figura 6). Con técnica estéril y previa asepsia del sitio a biopsiar con solución antiséptica de clorhexidina (Nina Scrub®) durante 60 seg., se procedió a tomar la biopsia con hoja de bisturí #21 siguiendo el marcaje (ver figura 6), incluyendo el tejido celular subcutáneo, y respetando el plano muscular (ver figura 7).

Para el manejo de la herida, posterior a la toma de biopsia, se realizó un cierre primario con puntos simples de nylon 1/0 (ver figura 8). Los cuidados de la herida se realizaron cada 24 horas con solución antiséptica (Mycrodacyn60®), hasta el retiro de los puntos a los 15 días.

*supervisión y manejo de dolor.*

Se realizaron los procedimientos bajo sedación y anestesia, para evitar dolor en los animales. Se realizaron procedimientos de cirugía menor como es la aplicación de medicamento a estudiar, y toma de biopsia de piel (abarcando tejido subcutáneo, incluyendo tejido adiposo); se dieron lapsos cortos de inmovilización que van más allá de la simple observación o examen, pero que cursan con estrés mínimo.

La analgesia posoperatoria se proporcionó con parches transdérmicos de fentanilo (Duragesic® 25 o 100, Janssen Pharmaceuticals, NJ) aplicados en el cuello dorsal detrás de la oreja y mantenidos en su lugar utilizando grapas quirúrgicas y una capa protectora adicional de vendaje adhesivo transparente.

El reconocimiento de dolor y su severidad resultan imprescindibles, por lo cual se utilizaron datos clínicos, monitorización, y escala de dolor (*ver tablas 1, 2, y 3*).

#### *Manejo y cuidados postoperatorios:*

Tras la cirugía se administró el antibiótico amoxicilina (Suramox® 500/0), este se administró como preventivo de infecciones secundarias a causa del procedimiento. La administración fue vía oral disuelta en agua en dosis de 40 gramos (gr.) en 100 litros (L) de agua durante 5 días.

#### *Manejo de los cerdos al finalizar el estudio:*

El protocolo realizado no generó un daño significativo al animal que requiriera de eutanasia, se consideró que en aproximadamente 15 días el



1n1m11 presentó una curación total. Los animales una vez que se recuperaron fueron utilizados para fines de reproducción.

## DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO.

### *Bajo Sedación y Anestesia:*

1. *Día 0:* Se rasuró el dorso de los cerdos.
2. *Día 0:* Se marcaron zonas de 4 x 4 cm. en el dorso (ver figuras 1 Y 2).
3. *Día 0:* Primera hilera, se aplicó a nivel subcutáneo 1 ml de una solución obtenida al diluir 5 ml de suero fisiológico en un vial de lipasa exógena (PBSerum Slim+®) (Grupo 1: lipasa 1x).
4. *Día 0:* Segunda hilera, se aplicó a nivel subcutáneo 1 ml. de una solución obtenida al diluir 1 ml. de suero fisiológico en un vial de lipasa exógena (PBSerum Slim+®) (Grupo 2: lipasa 5x).
5. *Día 0:* Tercera hilera, se aplicó a nivel subcutáneo 1 ml. de una solución obtenida al diluir dos viales de lipasa exógena en 1 ml. de suero fisiológico (PBSerum Slim+®) (Grupo 3: lipasa 10x).
6. *Día 0:* Como control negativo (C(-)), en una segunda columna, se aplicó a nivel subcutáneo 1 ml. de suero fisiológico en cada una de las hileras, correspondientes a las distintas concentraciones de lipase exógena (Grupo 1, Grupo 2, y Grupo 3).
7. *Día 0:* Como control positivo (C(+)), en una tercera columna, se aplicó a nivel subcutáneo 1 ml. de fosfatidilcolina (Draining PPC INNO-TOS®, Innoaesthetics, Barcelona, España) en cada una de las hileras.

correspondientes a las distintas concentraciones de lipasa exógena (Grupo 1, Grupo 2, y Grupo 3).

8. Alojamiento y manutención de los cerdos por 3 días.

#### *Bajo Sedación y Anestesia:*

9. *Día 3:* Se tomaron biopsias de piel y tejido celular subcutáneo (hasta fascia) de cada sitio de inyección (*ver figuras 6 y 7*).

10. *Día 3:* Se realizó un cierre primario con puntos simples de nylon 1/0 (*ver figura 8*).

11. Se enviaron las muestras al Departamento de Histología de la Facultad de Medicina de la UANL, donde se realizó el procesamiento de las muestras.

12. *Procesamiento de las muestras:* Los tejidos obtenidos fueron cortados en pequeños fragmentos menores a 5 mm de espesor y fijados en paraformaldehído (PFA) 4% por un espacio de 24 horas. Se prosiguió con la deshidratación a través del pase de los tejidos en soluciones de etanol en sentido ascendente (60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 100%), Etanol:Xilol (1:1), Xilol (dos pases), y Parafina (dos pases) por espacio de 1 hora en cada solución. Posteriormente, los tejidos fueron incluidos en bloques de parafina y se realizaron cortes de 5 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) de espesor en el micrótomos Leica RM2245. Los cortes fueron analizados en campo claro en un microscopio Leica DM500. Algunos cortes fueron sometidos a tinción con hematoxilina y eosina, según se indicó.

13. Una vez obtenidos los cortes, se seleccionó la laminilla más representativa de cada región, teñida con hematoxilina y eosina. En total fueron 9 laminillas por cerdo (tres de lipasa, tres de fosfatidilcolina, y tres de suero fisiológico).
14. Se tomaron, de cada laminilla, cinco fotografías digitales a un campo de aumento de 20x, con el microscopio Nikon Eclipse 50i, y el software QCapture® v2.9.13 (Silicon Graphics, Inc.). Cada fotografía se dividió en cuadrantes, y se seleccionó uno de ellos para su análisis.
15. Se contó el número de células en el cuadrante seleccionado, mediante el software ImageJ® v1.8.0\_101 (National Institutes of Health, Estados Unidos).
16. Se midió el grado de inflamación según la escala establecida (ausente, leve, moderada y severa), en base al infiltrado celular presente.
17. Se midió el número de adipocitos lisados según la escala establecida (ausente, leve, moderada y severa).
18. Se vaciaron los datos en el software numbers® v3.2.6 (Apple Inc., Cupertino, California, U.S.).

#### CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Mínimo necesario. Para fines de este protocolo, se utilizaron tres cerdos con las características antes mencionadas, con la intención de obtener resultados con mayor valor estadístico.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico se realizó con IBM SPSS versión 20.0 (SPSS, Inc., Amonk, NY). Se realizó un análisis estadístico descriptivo donde para las variables numéricas se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión como medias y desviación estándar, para las variables categóricas porcentajes y frecuencias. Las variables numéricas se compararon con prueba ANOVA de un factor al comparar cada grupo por separado (lipasa 1x, lipasa 5x, y lipasa 10x, con sus controles negativo y positivo), considerando como significativo un valor de  $p < 0.05$ . Para comparar la administración de lipasa a diferentes concentraciones (1x, 5x, y 10x) se realizó ANOVA de medidas repetidas, como prueba Post Hoc se utilizó Bonferroni a una significancia de  $p < 0.05$ .



## RESULTADOS.

Se vaciaron los datos obtenidos del número de células por cuadrante (ver *tabla 4*) en el software numbers® v3.2.6 (Apple Inc., Cupertino, California, U.S.), para su posterior análisis estadístico. Se obtuvieron los promedios o medias por grupo (lipasa 1x, lipasa 5x, y lipasa 10x, con sus controles negativo y positivo), Y como medidas de dispersión la desviación estándar y error estándar (ver *tabla 5 y 6*). Además se realizó un análisis intragrupal para comprar la lipasa con sus controles negativo y positivo (ver *tabla 7*), y un análisis intergrupar para comparar las distintas concentraciones de lipasa (1x, 5x, y 10x) (ver *tabla 8*).

En el grupo 1 se obtuvo una media de 47.80, 27.26, y 34.66 para lipasa 1x, control negativo, y control positivo respectivamente (ver *tabla 5 y 6*); al comparar dichos valores entre sí, se obtuvo una significancia de  $p < 0.05$  (ver *tabla 1*). En el grupo 2 se obtuvo una media de 36.06, 24.13, y 33.20 para lipasa 5x, control negativo, y control positivo respectivamente (ver *tabla 5 y 6*); al comparar dichos valores entre sí, se obtuvo una significancia de  $p < 0.05$ , excepto al comparar lipasa 5x vs. C(+) (ver *tabla 1*). En el grupo 3 se obtuvo una media de 40.06, 29.26, y 32.66 para lipasa 10x, control negativo, y control positivo respectivamente (ver *tabla 5 Y 6*); al comparar dichos valores entre sí, se obtuvo una significancia de  $p < 0.05$ , excepto al comparar C(+) vs. C(-) (ver

tabla 7). Al realizar la comparación intergrupar entre las distintas concentraciones de lipasa (1x, 5x, y 10x), se obtuvo una significancia de  $P < 0.05$ , sin embargo, no fue una correlación lineal positiva.

Estos resultados se graficaron para una mejor interpretación de los datos (ver gráfico 1). Como podemos observar en la gráfica para los 3 grupos el número de células fue mayor en los grupos de lipasa, en comparación con sus controles negativo y positivo. Esto nos indica, además, que las células fueron de menor tamaño en los grupos de lipasa (1x, 5x, y 10x). También podemos observar que no hubo una correlación lineal positiva entre la concentración de lipasa (1x, 5x, y 10x) y el número de células, e incluso el número de células fue mayor en el grupo de lipasa 1x.

En cuanto al grado de inflamación (ausente, leve, moderada, y severa), se observó como en los tres grupos (lipasa 1x, lipasa 5x, y lipasa 10x), y en sus controles negativos no se presentó inflamación o fue prácticamente nula, por lo cual se cuantificó como ausente o leve; por el contrario, en el grupo de controles positivos, se cuantificó como moderada o severa.

Finalmente en cuanto al grado de adipocitos lisados o pérdida de arquitectura celular (ausente, leve, moderada, severa), se observó como en los tres grupos (lipasa 1x, lipasa 5x, y lipasa 10x), Y en sus controles negativos no se presentó lisis o fue prácticamente nula, por lo cual se cuantificó igualmente como ausente o leve; por el contrario, en el grupo de controles positivos, se cuantificó como moderada o severa.

En las siguientes imágenes (ver imagen 6) se observa una imagen representativa de uno de los grupos de lipasa, Y una imagen de uno de los

controles negativos. Podemos observar como el tamaño de las células es menor en el grupo de lipasa, asociado a un mayor número de células. Además es evidente que no existen datos de inflamación en ninguna de las dos imágenes.

Finalmente, en las siguientes imágenes (*ver Imagen 7*) se observa una imagen representativa de uno de los grupos de lipasa y una imagen de uno de los controles positivos. Podemos observar como el número de células es mayor en el grupo de lipasa. Además es evidente que en la imagen del control positivo existen datos de inflamación, principalmente acumulo de células inflamatorias Y datos de hemorragia, asociado a pérdida de la arquitectura celular de los adipocitos, lo cual es compatible con lisis de los mismos.

## DISCUSIÓN.

La obesidad y principalmente la distrofia corporal se ha convertido en una patología con alta prevalencia en la consulta de cirugía plástica estética, y ha sido el tratamiento quirúrgico, específicamente la liposucción, la principal opción terapéutica. Sin embargo, en la actualidad, los pacientes buscan cada vez más, opciones terapéuticas no quirúrgicas. En los últimos años han surgido múltiples opciones no quirúrgicas dentro de las cuales destacan los tratamientos con radiofrecuencia y los inyectables.

Dentro de los tratamientos inyectables, existen varias técnicas como lo son, la mesoterapia, y la carboxiterapia. Como ya lo describimos antes, la mesoterapia consiste en la inyección de múltiples productos a nivel intradérmico, sin embargo, no se dispone de una pauta de tratamiento ni una mezcla de productos, ni una frecuencia entre sesiones estandarizada<sup>19</sup>. Existe un gran número de protocolos o formulas, y como cada protocolo difiere de médico a médico, no ha sido posible estandarizar un protocolo de inyección de dichas sustancias.

Según la American Society of Plastic Surgeons (ASPS) y la American Society for Dermatologic Surgeons (ASDS), "la mesoterapia no ha demostrado ser una alternativa segura a la liposucción"<sup>HJ</sup>.



La aparición de efectos adversos debido a la mesoterapia ha sido descrita en los últimos años. Los efectos locales más frecuentes después de una sesión de mesoterapia son edema, eritema, equimosis o nódulos subcutáneos. Los efectos adversos más graves son debidos principalmente a la toxicidad de los productos inyectados, con la aparición de anticuerpos o reacciones alérgicas<sup>19</sup>.

Los productos más utilizados por esta vía son la fosfatidilcolina y el desoxicolato de sodio, los cuales se suelen administrar juntos<sup>20</sup>.

La fosfatidilcolina también llamada lecitina, es un fosfolípido que, junto con las sales biliares, ayuda a la solubilización de los ácidos biliares en la bilis<sup>21</sup>. Es uno de los principales constituyentes de las bicapas lipídicas de las membranas celulares<sup>22</sup>. La indicación clásica es la profilaxis y el tratamiento de la embolia grasa del politraumatizado. Una de las hipótesis consideradas es que la fosfatidilcolina es la iniciadora del proceso de hidrólisis de triglicéridos en ácidos grasos y glicerol mediante la HSL, otras hipótesis son la activación de receptores específicos de membrana y la destrucción de los adipocitos, esta última sería desencadenada por la activación de la vía de la inflamación (con presencia de un infiltrado formado por linfocitos), o por una acción irritante directa de la fosfatidilcolina sobre los adipocitos<sup>21</sup>. Es importante resaltar que el tratamiento aislado con fosfatidilcolina no adelgaza, sólo ayuda a la remodelación del contorno corporal. Las regiones corporales permitidas para el tratamiento son: abdomen, cintura y flancos, caderas, infraglúteos, parte interna de muslos y de rodillas, preaxilar, y parte interna de brazos<sup>21</sup>. Algunas regiones requieren mucha práctica y mucho cuidado en la aplicación, como las bolsas palpebrales y la región submentoniana. No se recomienda aplicar fosfatidilcolina

en nalgas, o en la proximidad de aponeurosis y articulaciones. Con respecto a la toxicidad, no existen estudios relativos al uso inyectable. A pesar de no haber estudios de las dosis usadas por vía subcutánea, se recomienda mucha cautela debido al gran proceso inflamatorio que puede ocurrir habitualmente después de la aplicación<sup>21</sup>.

El desoxicolato de sodio también conocido como ácido desoxicólico es un ácido biliar presente en el humano, presenta una acción detergente emulsificando las grasas ingeridas en la dieta, además de tener efecto sobre las proteínas de las membranas celulares; su utilidad para la reducción de grasa localizada es debida a su acción sobre la membrana de las células adiposas con necrosis y lisis de las mismas, la rotura de la membrana libera ácidos grasos que van a reaccionar con el desoxicolato de sodio<sup>22</sup>. Los efectos adversos son muy similares que los reportados con la fosfatidilcolina.

Según la literatura, en el 100% de los casos en los cuales se utilizan estas sustancias, se presentan dolor, hinchazón de la zona tratada, quemazón, sensibilidad al tacto, prurito, eritema, y hematomas; también se han descrito efectos secundarios de naturaleza colinérgica como náusea, aumento de la sudoración, cuadros diarreicos, modificaciones de la salivación y el gusto, así como arritmias cardíacas<sup>2</sup>. La mayoría de los estudios de estas sustancias concluyen que son necesarios ensayos clínicos con más calidad, mayor tamaño muestral, con menos sesgos y con una validez interna y externa más potentes, y así poder evaluar mejor este campo tan interesante del tratamiento de la obesidad mediante técnicas inyectivas más seguras, eficaces, y menos molestas para los pacientes que deseen mejorar la estética corporal<sup>19</sup>.

La lipasa PB500 (PBSerum Slim+®) es una enzima termoestable con una potente actividad lipolítica. Se encuentra aprobado su uso de forma tópica para disolver de forma selectiva los lípidos acumulados en los adipocitos, movilizándolos la grasa<sup>1º</sup>. Se ha propuesto su uso de manera inyectable con la técnica de mesoterapia, sin embargo, no existen estudios sobre su seguridad y eficacia de su administración subcutánea. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la inyección de lipasa exógena en el tejido adiposo subcutáneo en un modelo animal porcino, así como identificar la presencia de inflamación y/o pérdida de la arquitectura celular de los adipocitos posterior a la administración de la misma.

En este estudio se decidió utilizar conteo celular en lugar de tamaño (diámetro), o volumen celular, ya que al ser los adipocitos células redondas, en un corte histológico no era posible determinar a qué nivel del adipocito se encontraba el corte. Además, se decidió tomar la biopsia al tercer día de la intervención (inyección subcutánea de lipasa) de manera arbitraria, ya que en la literatura no está establecido cuál es el tiempo de máxima acción, la duración del efecto, o si dosis repetidas pueden potenciar el mismo.

Se logró identificar que el número de células fue mayor en los grupos de lipasa (lipasa 1x, lipasa Sx, y lipasa 10x), en comparación con sus controles (negativo y positivo). El conteo celular se llevó a cabo en uno de los cuadrantes de las fotografías seleccionadas, por lo cual al presentar un número mayor de células, nos indica que el tamaño de las mismas fue menor. Los adipocitos son células redondeadas con un contenido lipídico que representa el 95% de la masa celular, por lo cual si el tamaño de las mismas es menor, nos indica que



la cantidad de lípidos disminuyó, apoyando la teoría reportada en la literatura sobre la actividad lipolítica de la enzima. Un dato importante de resaltar es que no hubo una correlación lineal positiva entre la concentración de lipasa (1x, 5x, y 10x) Y el número de células, e incluso el número de células fue mayor en el grupo de lipasa 1x. Por lo cual podemos inferir que al menos en este estudio, no logramos establecer que exista un efecto mayor si administramos una dosis mayor de lipasa exógena.

Dentro de los objetivos, también nos propusimos identificar la presencia o no de efectos adversos a la administración de lipasa exógena. En los resultados fue evidente la existencia de inflamación y lisis de adipocitos en los grupos de control positivo como ya esta reportado en la literatura. Por el contrario, en los grupo de lipasa (1x, 5x, y 10x) los datos de inflamación o pérdida de arquitectura celular fueron leves o incluso ausentes en la mayoría de los cortes histológicos. Este es un dato interesante ya que a pesar de ser una sustancia extraña para el cerdo, no parece haber causado una reacción cutánea ni macroscópica, ni microscópicamente como si se evidenció en los grupos de control positivo, donde como ya mencionamos en los resultados, se evidencio un proceso inflamatorio con lisis celular. En los pocos casos donde se observó perdida de arquitectura celular de los adipocitos en los grupos de lipasa, parece ser que esta más asociado con la técnica de procesamiento histológico, que a la presencia de inflamación. Con estos datos podemos inferir que la lipasa es más segura que la fosfatidilcolina o el desoxicolato de sodio, ya que no parece causar los efectos adversos cutáneos que si son frecuentes con las otras sustancias. Siendo esto una ventaja importante ya que siempre debemos de



evitar medicamentos o sustancias con efectos adversos que pudieran causarle algún daño a nuestros pacientes.

Hay que recordar que este estudio fue una prueba de concepto, por lo cual los resultados son apenas un parteaguas para establecer la eficacia y seguridad de la lipasa exógena administrada subcutáneamente, como tratamiento para la disminución de la grasa localizada. No sabemos con claridad cual es el mecanismo de acción a nivel subcutáneo, cual es la dosis recomendada, cuando inicia el efecto, cuando es el tiempo de máxima acción, si dosis subsecuentes tendría efecto adicional, cuando desaparece el efecto, entre otras interrogantes, sin embargo, estos temas están fuera de los alcances del estudio y se requiere diferentes diseños para poder resolver dichas cuestiones.

## CONCLUSIÓN.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos aceptar nuestra hipótesis: la lipasa exógena administrada de manera inyectable, afecta al tejido adiposo subcutáneo en un modelo animal porcino.

Se obtuvo una disminución del tamaño y mayor número de células en los grupos de lipasa exógena en comparación con su controles negativos Y positivos, con una significancia estadística de  $p < 0.05$ , y aunque se obtuvo una significancia de  $p < 0.05$  al comparar las tres concentraciones de lipasa entre sí (lipasa 1x, lipasa 5x, y lipasa 10x), no hubo una correlación lineal positiva entre las mismas. Además no se evidenciaron datos de inflamación y/o perdida de la arquitectura celular en los grupos de lipasa exógena, contrastando con los controles positivos (fosfatidilcolina), en los cuales si se encontraron datos de inflamación (hemorragia, células inflamatorias), asociada a perdida de la arquitectura celular o lisis de los adipocitos.

Como ya se mencionó en los resultados este estudio fue una prueba de concepto, por lo cual los resultados son apenas un parteaguas para establecer la eficacia y seguridad de la lipasa exógena administrada subcutáneamente, como tratamiento para la disminución de la grasa localizada. No sabemos con claridad cual es el mecanismo de acción a nivel subcutáneo, cual es la dosis recomendada, cuando inicia el efecto, cuando es el tiempo de máxima acción,

si dosis subsecuentes tendría efecto adicional, cuando desaparece el efecto, entre otras interrogantes, sin embargo, estos temas están fuera de los alcances del estudio. Y se requiere diferentes diseños para poder resolver dichas cuestiones.

## ANEXOS.

## TABLAS

*Signos clínicos indicativos de dolor en el cerdo:*

- Estado mental deprimido (torpe, cabeza baja, entre otros).
- Respiración rápida y superficial.
- Rechinar de dientes.
- Rechazo al movimiento.
- Agresividad acentuada en machos.
- Vocalizaciones persistentes.
- Menor reticencia a ser inmovilizados.
- Tendencia a moverse lentamente sin conservar posiciones fijas.
- Tensión en zona periorbitaria.
- Piloerección y temblores en dolor agudo.
- Decúbito esternal con extremidades posteriores extendidas hacia atrás, tras cirugía abdominal.

Tabla 1. Signos e/In/cos Indicativos de dolor en el cerdo":."

*Monitorización post-operatoria diaria:*

- Estado y dolor de la herida quirúrgica (palpación profunda y tejidos circundantes).
- Actitud y comportamiento.
- Apetito.
- Ingestión hldrlca.
- Eliminación de heces y orina.
- Aspecto de las heces.
- Constantes vitales (temperatura, pulso y frecuencia respiratoria) y tiempo de relleno capilar.

Tabla 2. Monitorización post-operatoria diaria<sup>a</sup>2."

## Esca/a de evaluaci3n del dolor tras cirugla:

### A. Grado de confort

- 0 = despierto, inter3s por su entorno, acostado a t't normal.  
 1 = espie o, no inter3s por su entorno, acostado, apettid.  
 2 = letargia, deprimido, anorexia.  
 3 = cabeza baja, letargia (orejas caldas), anorexia, rechinar de dientes.  
 4 = postrado, mirada fija y perdida, ojos medro cerrados, sin respuesta a estmulos, rechinar de dientes.

### S. Movilidad

- 0 = normal, no cojera.  
 1 = cojera leve, apoya la punta de la extremidad.  
 2 = cojera, cierto apoyo de la extremidad pero la mantiene en el aire.  
 3 = cojera, extremidad en el aire excepto cuando se desplaza.  
 4 = cojera, extremidad en el aire cuando se desplaza.

### C. Comportamiento social

- 0 = normal, se desplaza con el grupo.  
 1 = cambios leves: se retrasa ocasionalmente.  
 2 = cambios moderados: se retrasa con frecuencia.  
 3 = cambios graves: apat(a respecto a otros animales.

### D. Comportamiento alimenticio

- 0 = normal.  
 1 = cambios leves.  
 2 = cambios moderados.  
 3 = cambios graves: anorexia.

### E. Frecuencia respiratoria

- 0 = normal.  
 1 = incremento evidente de la frecuencia.  
 2 = hiperventilaci3n franca.  
 3 = hiperventilaci3n con boca abierta.

### F. Palpaci3n de la zona inflamada y movilidad

- 0 = ninguna, sin respuesta alguna.  
 1 = dolor leve, respuesta positiva en herida y en lado contralateral (hiperreflexia).  
 2 = dolor moderado, vocaliza, retira la extremidad, dolor en otras localizaciones. Considerar analgesia.  
 3 = dolor grave, vocaliza, retira la extremidad, muerde o intenta escapar. Considerar analgesia.

### G. Signos de inflamaci3n (edema, calor, dolor, rubor)

- 0 = ninguno.  
 1 = leve.  
 2 = medio.  
 3 = moderado.  
 4 = grave.

Las puntuaciones m3s elevadas significan un grado superior de dolor y por tanto, de necesidad de analgesia. Si tras la analgesia, la monitorizaci3n de esta puntuaci3n no varla, serla necesario modificar la mol3cula o su posologia y/o a1adir medidas no farmacol3gicas.

Tabla 3. Esca/a de evaluaci3n del dolor tras cirugla<sup>23-28</sup>.



|                     | Cuadrante | Muestra #1 | Cuadrante | Muestra #2 | Cuadrante | Muestra #3 |
|---------------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| <b>Fotografía 1</b> |           |            |           |            |           |            |
| Lipasa tx           | SD        | 36         | SD        | 59         | li        | 58         |
| Lipasa 5x           | SI        | 40         | SD        | 39         | SD        | 42         |
| Lipasa 10x          | ID        | 45         | SD        | 40         | li        | 48         |
| C-1x                | ID        | 29         | SD        | 33         | SI        | 25         |
| C- 5x               | ID        | 20         | SD        | 30         | SI        | 32         |
| C- 10x              | SD        | 31         | ID        | 31         | li        | 27         |
| C+ tx               | ID        | 28         | ID        | 30         | ID        | 36         |
| C+ 5x               | ID        | 25         | ID        | 28         | li        | 37         |
| C+ 10x              | SI        | 21         | SD        | 27         | SI        | 27         |
| <b>Fotografía 2</b> |           |            |           |            |           |            |
| Lipasa 1x           | SI        | 40         | SD        | 50         | li        | 49         |
| Lipasa Sx           | SI        | 39         | li        | 30         | li        | 35         |
| Lipasa 10x          | ID        | 35         | ID        | 35         | ID        | 40         |
| C-1x                | SI        | 27         | ID        | 35         | ID        | 20         |
| C- Sx               | ID        | 17         | li        | 24         | ID        | 22         |
| C-10x               | SI        | 30         | li        | 29         | li        | 27         |
| C+ tx               | ID        | 25         | li        | 44         | li        | 36         |
| C+ Sx               | SD        | 24         | SD        | 40         | SI        | 41         |
| C+ 10x              | li        | 39         | li        | 34         | ID        | 30         |
| <b>Fotografía 3</b> |           |            |           |            |           |            |
| Lipasa 1x           | li        | 46         | SI        | 48         | li        | 44         |
| Lipasa 5x           | ID        | 33         | SD        | 40         | ID        | 41         |
| Lipasa 10x          | li        | 39         | SI        | 46         | li        | 42         |
| C-1x                | ID        | 20         | li        | 25         | li        | 28         |
| C- Sx               | SI        | 17         | SI        | 20         | li        | 27         |
| C-10x               | SD        | 28         | li        | 30         | SI        | 26         |
| C+ 1x               | li        | 23         | SI        | 38         | li        | 45         |
| C+ 5x               | SD        | 17         | SI        | 36         | li        | 55         |
| C+ 10x              | li        | 38         | ID        | 28         | SI        | 30         |
| <b>Fotografía 4</b> |           |            |           |            |           |            |
| Lipasa 1x           | ID        | 40         | li        | 47         | ID        | 56         |
| Lipasa 5x           | ID        | 35         | SI        | 26         | SD        | 38         |
| Lipasa 10x          | SD        | 45         | SI        | 37         | ID        | 40         |
| C-1x                | ID        | 25         | SI        | 28         | SI        | 30         |
| C- 5x               | SI        | 24         | li        | 20         | SI        | 31         |
| C-10x               | SI        | 27         | li        | 30         | li        | 29         |
| C+ 1x               | ID        | 28         | li        | 41         | SI        | 41         |
| C+ 5x               | SI        | 26         | SD        | 40         | li        | 39         |
| C+ 10x              | li        | 37         | SD        | 40         | li        | 29         |
| <b>Fotografía 5</b> |           |            |           |            |           |            |
| Lipasa 1x           | li        | 39         | SI        | 60         | ID        | 45         |
| Lipasa 5x           | li        | 36         | SD        | 29         | li        | 38         |
| Lipasa 10x          | li        | 35         | SI        | 35         | ID        | 39         |
| C-1x                | SI        | 29         | SI        | 35         | SI        | 20         |
| C- 5x               | li        | 24         | li        | 22         | SI        | 32         |
| C-10x               | SI        | 33         | SD        | 34         | li        | 27         |
| C+ 1x               | SI        | 31         | li        | 36         | li        | 38         |
| C+ 5x               | SD        | 29         | li        | 33         | ID        | 28         |
| C+ 10x              | SI        | 35         | li        | 45         | li        | 30         |

Tabla 4. Número de células por cuadrante (C- = Control Negativo, C+ = Control Positivo, SI = Superior Izquierdo, SD = Superior Derecho, li = Inferior Izquierdo, ID = Inferior Derecho).

|      |           | 1x | C- 1x | C+ 1x | 5x | C- 5x | C+ 5x | 10x | C- 10x | C+ 10x |
|------|-----------|----|-------|-------|----|-------|-------|-----|--------|--------|
| F. 1 | Muestra 1 | 36 | 29    | 28    | 40 | 20    | 25    | 45  | 31     | 21     |
|      | Muestra 2 | 59 | 33    | 30    | 39 | 30    | 28    | 40  | 31     | 27     |
|      | Muestra 3 | 58 | 25    | 36    | 42 | 32    | 37    | 48  | 27     | 27     |
| F. 2 | Muestra 1 | 40 | 27    | 25    | 39 | 17    | 24    | 35  | 30     | 39     |
|      | Muestra 2 | 50 | 35    | 44    | 30 | 24    | 40    | 35  | 29     | 34     |
|      | Muestra 3 | 49 | 20    | 36    | 35 | 22    | 41    | 40  | 27     | 30     |
| F. 3 | Muestra 1 | 46 | 20    | 23    | 33 | 17    | 17    | 39  | 28     | 38     |
|      | Muestra 2 | 48 | 25    | 38    | 40 | 20    | 36    | 46  | 30     | 28     |
|      | Muestra 3 | 44 | 28    | 45    | 41 | 27    | 55    | 42  | 26     | 30     |
| F. 4 | Muestra 1 | 40 | 25    | 28    | 35 | 24    | 26    | 45  | 27     | 37     |
|      | Muestra 2 | 47 | 28    | 41    | 26 | 20    | 40    | 37  | 30     | 40     |
|      | Muestra 3 | 56 | 30    | 41    | 38 | 31    | 39    | 40  | 29     | 29     |
| F.5  | Muestra 1 | 39 | 29    | 31    | 36 | 24    | 29    | 35  | 33     | 35     |
|      | Muestra 2 | 60 | 35    | 36    | 29 | 22    | 33    | 35  | -      | 45     |
|      | Muestra 3 | 45 | 20    | 38    | 38 | 32    | 28    | 39  | 27     | 30     |

| n    | 15       | 15       | 15       | 15       | 15       | 15       | 15       | 15        | 15       |
|------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|----------|
| Med. | 47.1     | 27.26667 | 34.66667 | 36.06667 | 24.13333 | 33.2     | 40.06667 | 29.26667  | 32.66667 |
| D.E. | 7.636379 | 4.934813 | 6.841749 | 4.742915 | 5.18055  | 9.344211 | 4.350151 | 2.3441926 | 3.09479  |
| E.S. | 1.971705 | 1.274163 | 1.766532 | 1.224615 | 1.337612 | 2.412665 | 1.123204 | 0.605268  | 1.6291   |

Tabla 5. Tabla con promedios y medidas de tendencia central y dispersión (F. = Fotografía, D.E. = Desviación Estándar, E.S. = Error Estándar.

|         |            | N  | Media   | Desviación típica | Error típico | Intervalo de confianza para la media al 95% |                 | Mínimo | Máximo |
|---------|------------|----|---------|-------------------|--------------|---|-----------------|--------|--------|
|         |            |    |         |                   |              | Límite inferior                             | Límite superior |        |        |
| Grupo 1 | Lipasa tx  | 15 | 47.8000 | 7.63638           | 1.97170      | 43.5711                                     | 52.0289         | 36.00  | 60.00  |
|         | Control(-) | 15 | 27.2667 | 4.93481           | 1.27416      | 24.5339                                     | 29.9995         | 20.00  | 35.00  |
|         | Control(+) | 15 | 34.6667 | 6.84175           | 1.76653      | 30.8778                                     | 38.4555         | 23.00  | 45.00  |
| Grupo 2 | Lipasa 5x  | 15 | 36.0667 | 4.74291           | 1.22462      | 33.4401                                     | 38.6932         | 26.00  | 42.00  |
|         | negativo   | 15 | 24.1333 | 5.18055           | 1.33761      | 21.2644                                     | 27.0022         | 17.00  | 32.00  |
|         | positivo   | 15 | 33.2000 | 9.34421           | 2.41266      | 28.0253                                     | 38.3747         | 17.00  | 55.00  |
| Grupo 3 | Lipasa 10x | 15 | 40.0667 | 4.35015           | 1.12320      | 37.6576                                     | 42.4757         | 35.00  | 48.00  |
|         | negativo   | 15 | 29.2667 | 2.34419           | .60527       | 27.9685                                     | 30.5648         | 26.00  | 34.00  |
|         | positivo   | 15 | 32.6667 | 6.30948           | 1.62910      | 29.1726                                     | 36.1607         | 21.00  | 45.00  |

Tabla 6. Variables descriptivas por grupos.



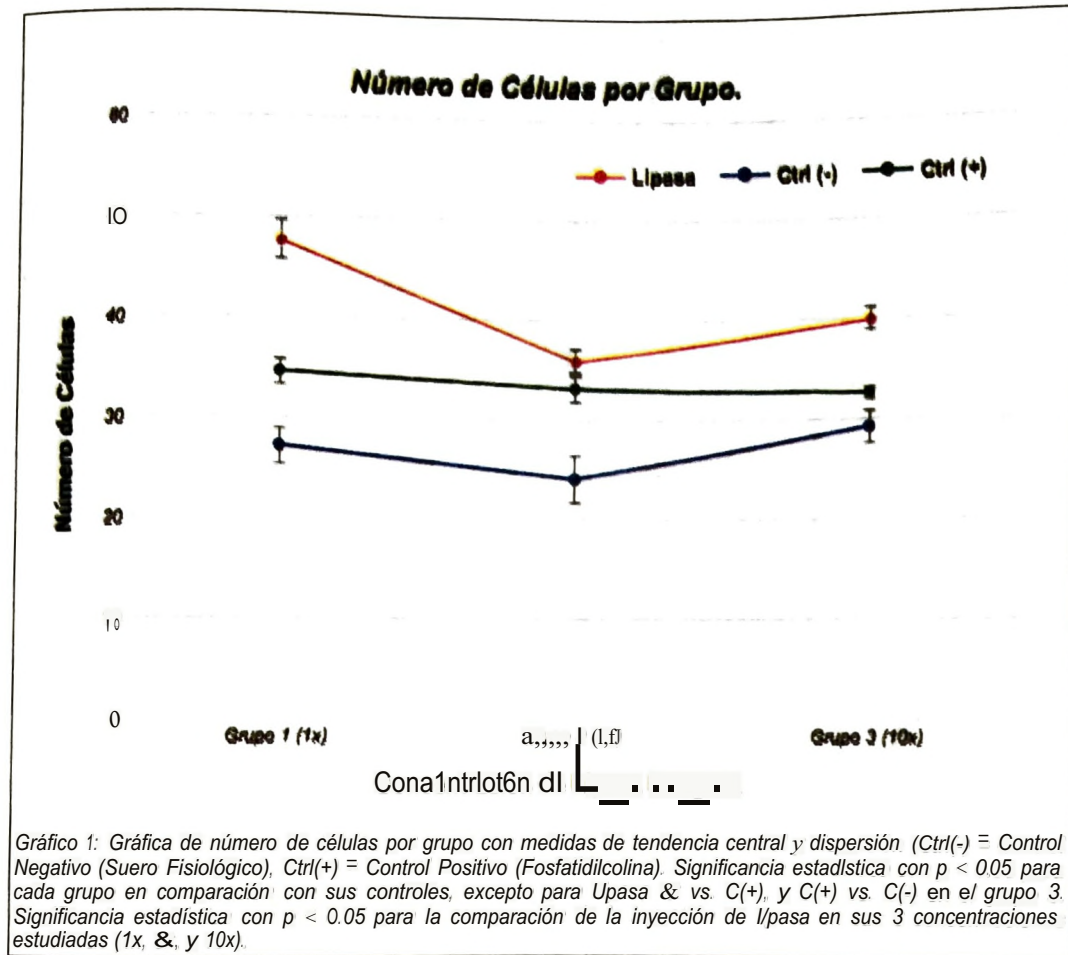
|         |             |             | Error típico | Significancia<br>( $p < 0.05$ ) | Intervalo de confianza<br>al 95% |                 |
|---------|-------------|-------------|--------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------|
|         |             |             |              |                                 | Límite inferior                  | Límite superior |
| Grupo 1 | Upasa 1x    | Control (-) | 2.39885      | .000                            | 14.5514                          | 26.5153         |
|         |             | Control (+) | 2.39885      | .000                            | 7.1514                           | 19.1153         |
|         | Control(-)  | Lipasa 1x   | 2.39885      | .000                            | -26.5153                         | -14.5514        |
|         |             | Control (+) | 2.39885      | .011                            | -13.3819                         | -1.4181         |
|         | Control(+)  | Lipasa 1x   | 2.39885      | .000                            | -19.1153                         | -7.1514         |
|         |             | Control(-)  | 2.39885      | .011                            | 1.4181                           | 13.3819         |
| Grupo 2 | Upasa 5x    | Control(-)  | 2.46439      | .000                            | 5.7880                           | 18.0787         |
|         |             | Control(+)  | 2.46439      | .754                            | -3.2787                          | 9.0120          |
|         | Control(-)  | Lipasa 5x   | 2.46439      | .000                            | -18.0787                         | -5.7880         |
|         |             | Control (+) | 2.46439      | .002                            | -15.2120                         | -2.9213         |
|         | Control(+)  | Lipasa5x    | 2.46439      | .754                            | -9.0120                          | 3.2787          |
|         |             | Control(-)  | 2.46439      | .002                            | 2.9213                           | 15.2120         |
| Grupo 3 | Lipasa 10x  | Control(-)  | 1.68956      | .000                            | 6.5868                           | 15.0132         |
|         |             | Control(+)  | 1.68956      | .000                            | 3.1868                           | 11.6132         |
|         | Control (-) | Upas110x    | 1.68956      | .000                            | -15.0132                         | -6.5868         |
|         |             | Control (+) | 1.68956      | .152                            | -7.6132                          | .8132           |
|         | Control(+)  | Lipasa 10x  | 1.68956      | .000                            | -11.6132                         | -3.1868         |
|         |             | Control (-) | 1.68956      | .152                            | -8.132                           | 7.6132          |

Tabla 7: Comparación intragrupal (Upasa vs. Controles).

|            |            | Error típico | Significancia<br>(p < 0.05) | Intervalo de confianza al 95 % para la diferencia |                 |
|------------|------------|--------------|-----------------------------|---|-----------------|
|            |            |              |                             | Límite inferior                                   | Límite superior |
| Lipasa 1x  | Lipasa 5x  | 2.445        | .001                        | 5.090   | 18.377          |
|            | Lipasa 10x | 2.279        | .013                        | 1.539   | 13.928          |
| Lipasa 5x  | Lipasa 1x  | 2.445        | .001                        | -18.377   | -5.090          |
|            | Lipasa 10x | 1.033        | .005                        | -6.807  | -1.193          |
| Lipasa 10x | Lipasa 1x  | 2.279        | .013                        | -13.928   | -1.539          |
|            | Lipasa 5x  | 1.033        | .005                        | 1.193   | 6.807           |

Tabla B: Comparación intergrupala (distintas concentraciones de Upasa).

## GRÁFICOS



FIGURAS

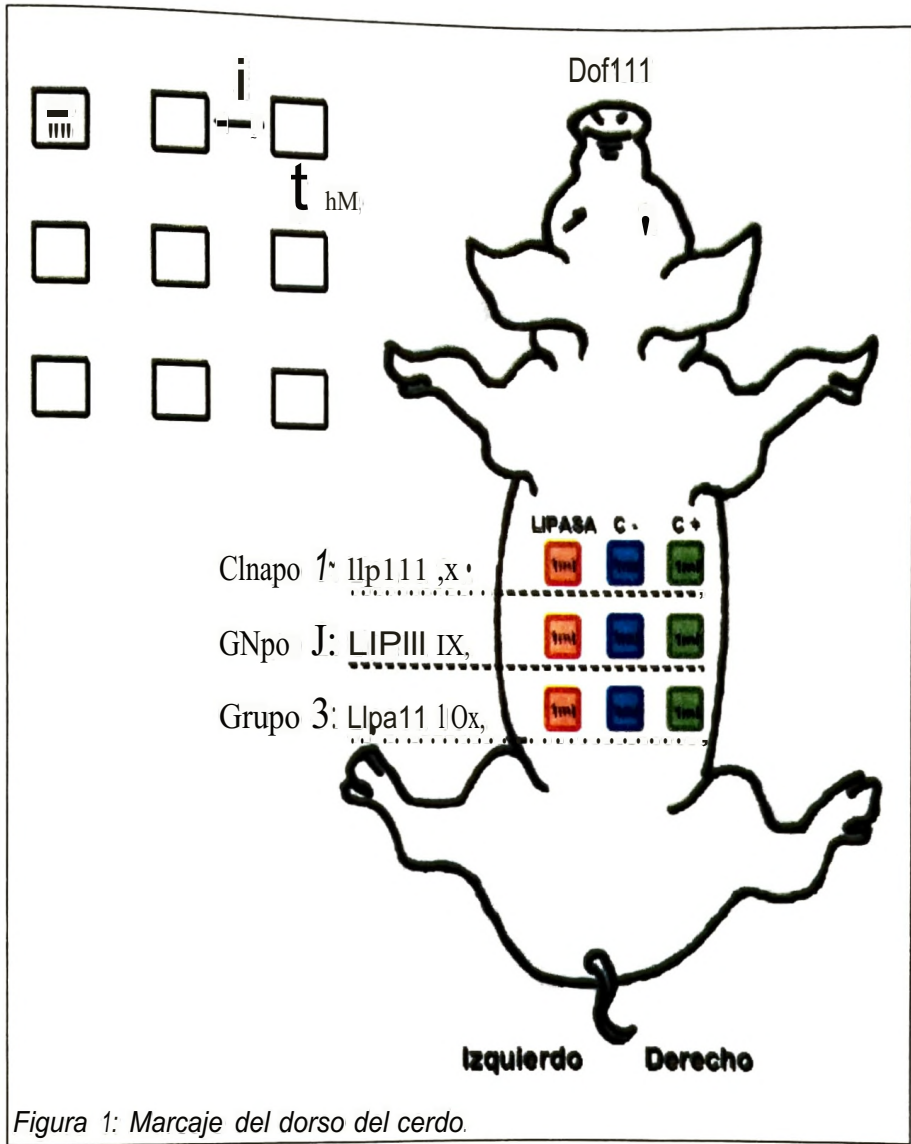


Figura 1: Marcaje del dorso del cerdo.



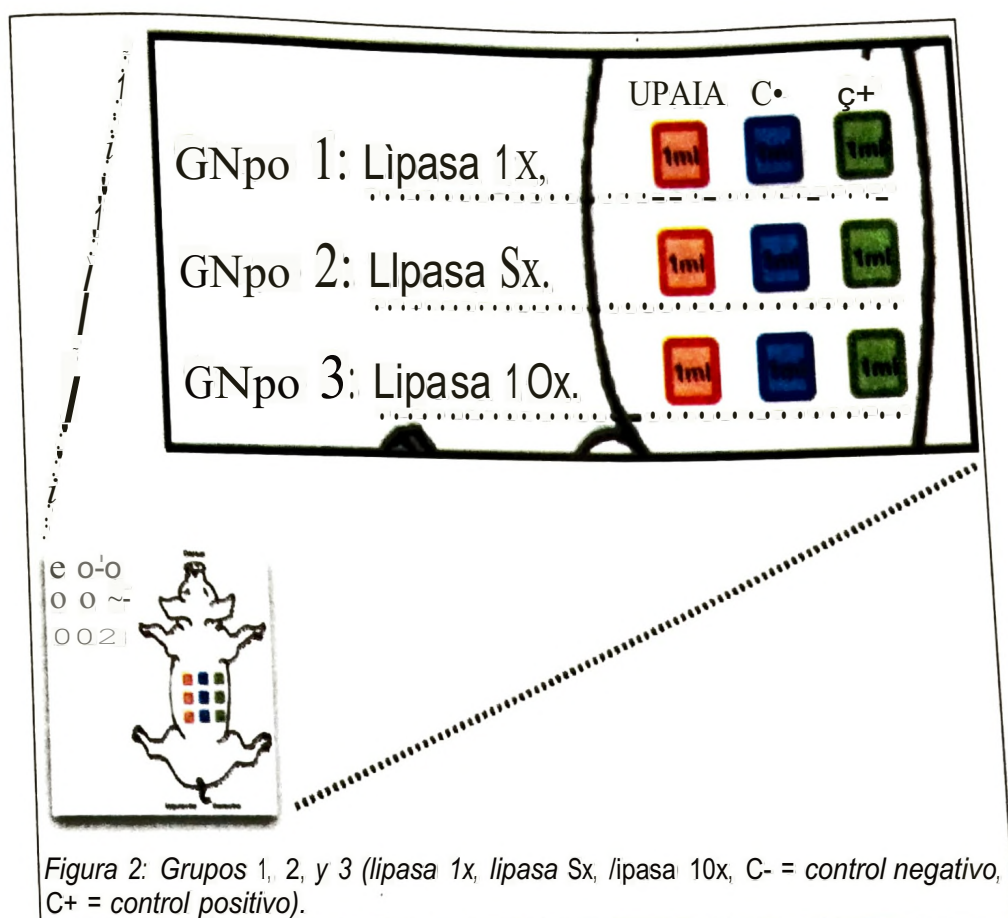




Figura 3: Jeringa de 1ml con aguja 25G x 16mm.

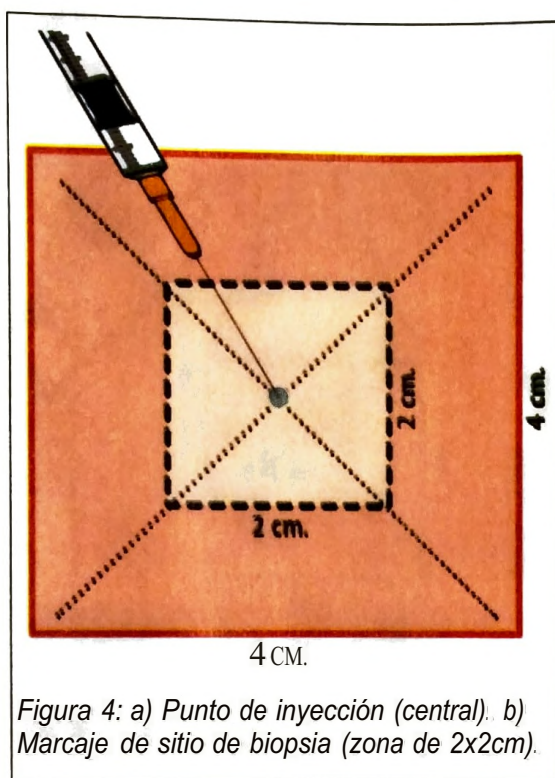
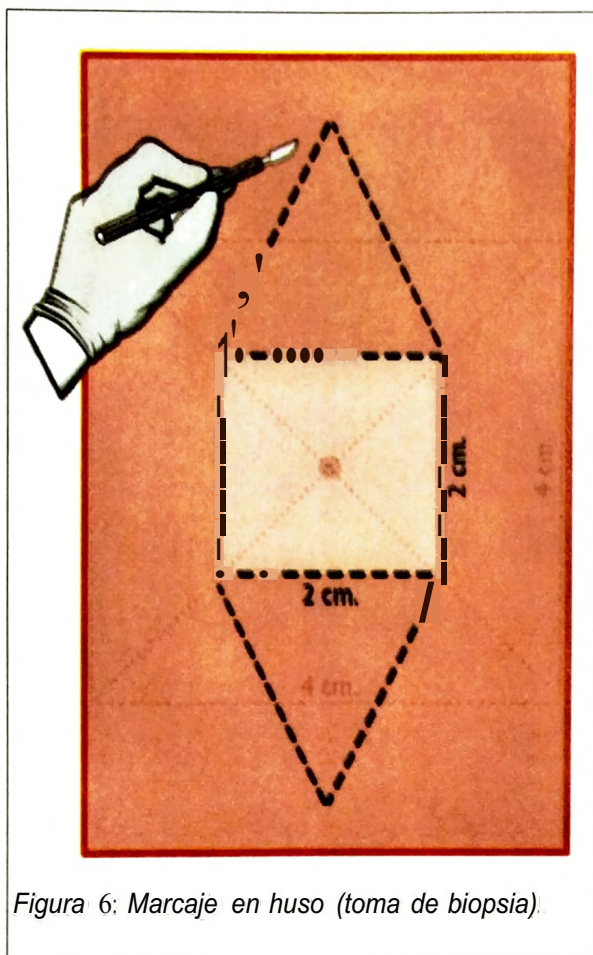
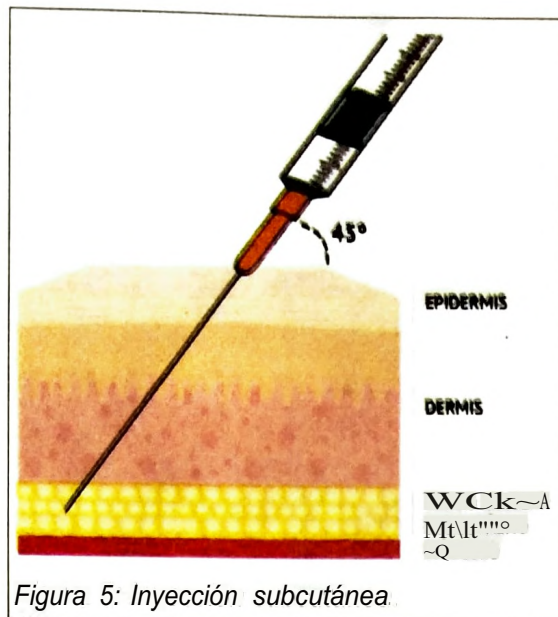
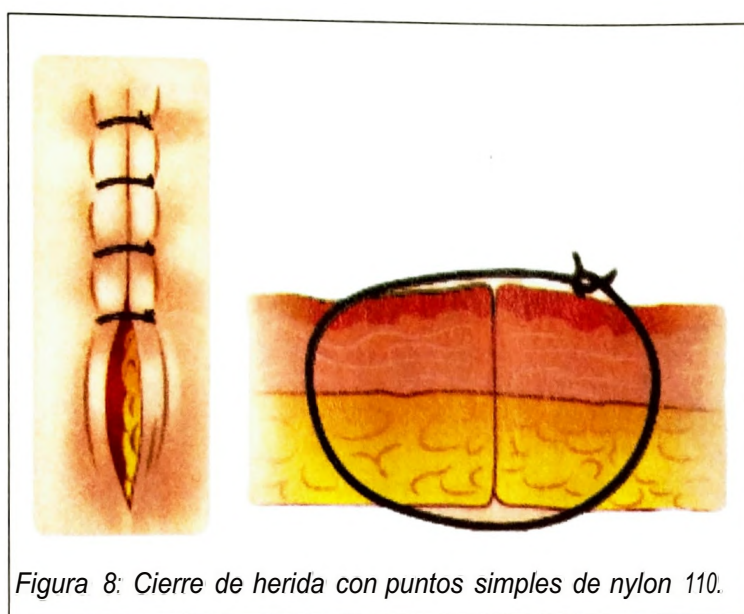
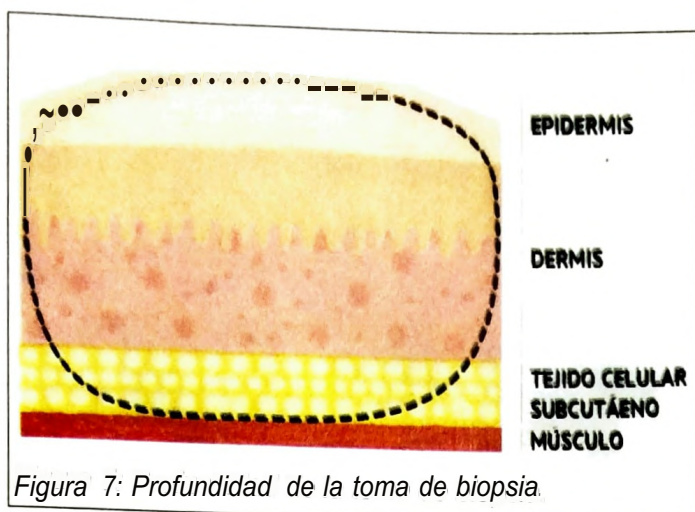


Figura 4: a) Punto de inyección (central). b) Marcaje de sitio de biopsia (zona de 2x2cm).







## IMÁGENES



*Imagen 1: Area pre y postquirúrgica.*



*Imagen 2: Mesa quirúrgica.*



*Imagen 3: Area quirúrgica.*



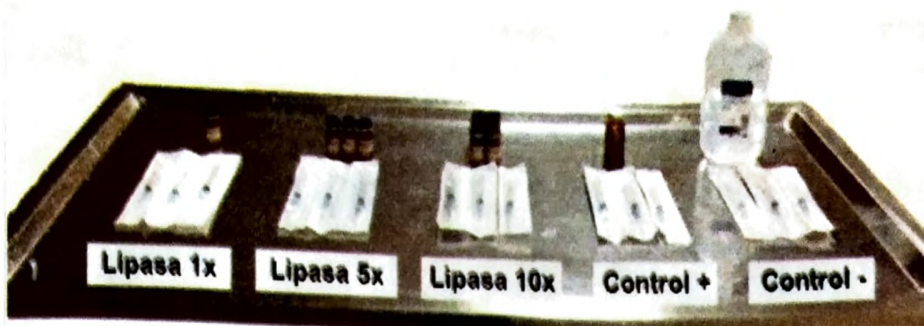


Imagen 4: Sustancias a Inyectar.

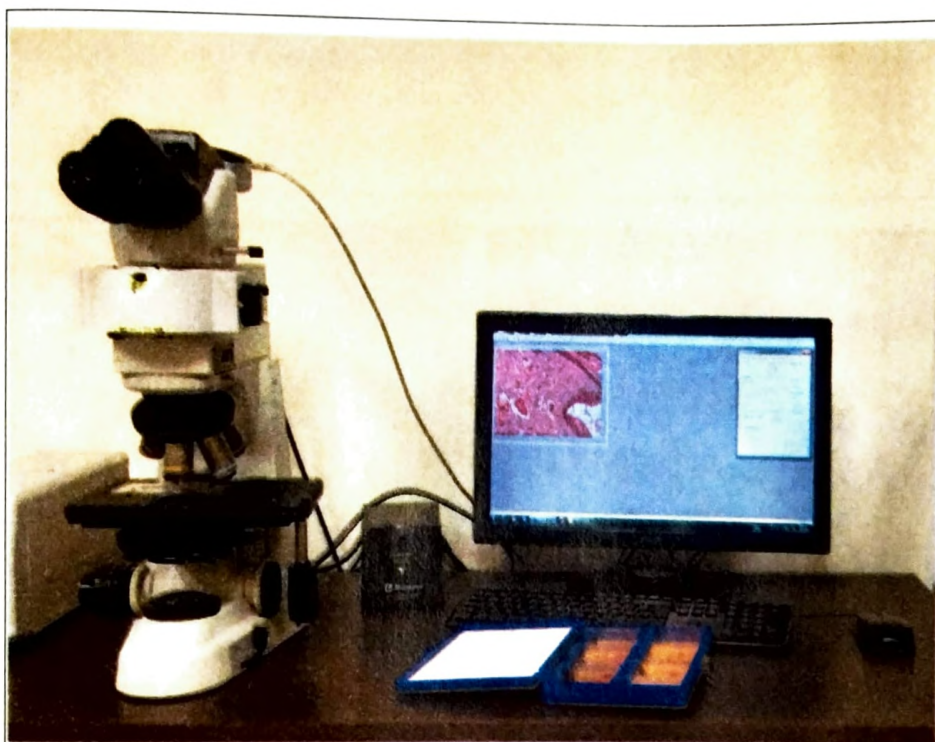
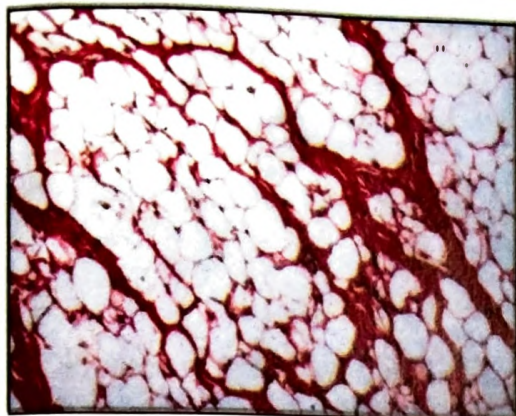
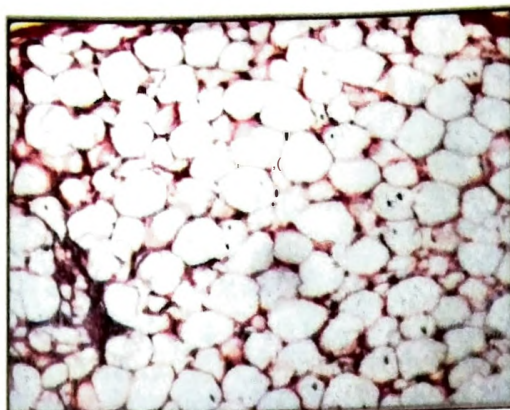


Imagen 5: Microscopio Nikon Eclipse 50i y el software QCapture® v2.9.13.

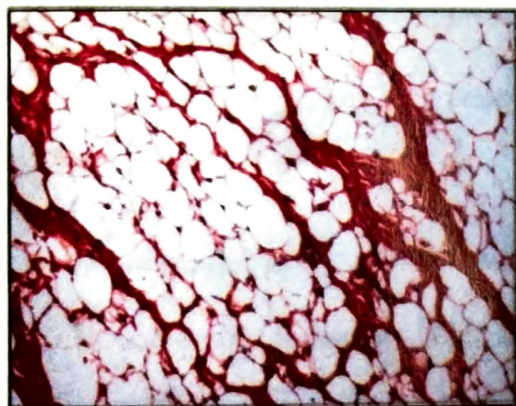


Lpa11

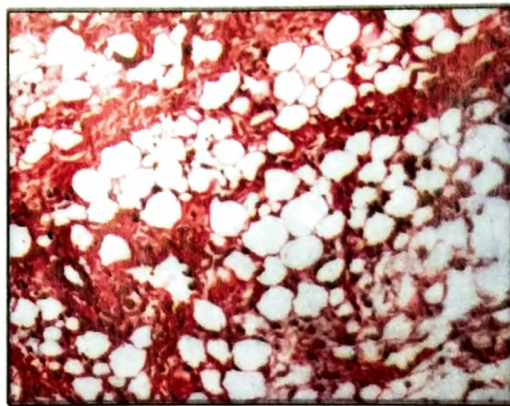


Control Negativo

*Imagen 6: Imagen de grupo de lipasa vs. imagen de grupo control negativo.*



Lp111



Control Positivo

*Imagen 7: Imagen de grupo de lipasa vs. imagen de grupo control positivo.*

BIBLIOGRAFIA.

1. ISAPS. ISAPS International Survey on Aesthetic / Cosmetic. /SAPS. 2015:1-20.
2. Rotunda AM, Kolodney MS. Mesotherapy and phosphatidylcholine injections: Historical clarification and review. *Dermatologie Surg.* 2006;32(4):465-480.
3. Matarasso A, Pfeifer TM. Mesotherapy for Body Contouring. *Plast Reconstr Surg.* 2005;115(5):1420-1424.
4. Pistor M. What is mesotherapy? *Chir Dent Fr.* 1976;(46):59-60.
5. Maggiori S. *Manuale Di Intradermoterapia Distrettuale: La Mesoterapia En Italia.*; 2004.
6. Mammucari M, Gatti A, Maggiori S, Bartoletti CA, Sabato AF. Mesotherapy, definition, rationale and clinical role: A consensus report from the Italian Society of Mesotherapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011; 15(6):682-694.
7. S. Jayasinghe, T. Guillot, L. Bissoon FG. Mesotherapy for local fat reduction. *Obes Rev.* 2013;14:780-791.



8. U.S. Food & Drug Administration.  
[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2015/206333Orig1s000TOC.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/206333Orig1s000TOC.cfm). 11.12.2018.
9. Zechner R, Kienesberger PC, Haemmerle G, Zimmermann R, Lass A. Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism of cellular fat stores. *J Lipid Res*. 2009;50(1):3-21.
10. Laboratorios PROTEOS Biotech S.L.  
<https://pbserum.com/productos/celulitis/pbserum-slim-plus.html>.  
 12.03.2018.
11. Zaldivar I, Licitra A. Estudio de Eficacia in-vitro e in-vivo Efecto Reductor de la Grasa Localizada y de la Celulitis Adiposa. *Lab PROTEOS Biotech*.:3-4.
12. Khoo AKA, Branford OA, Javaid M. Self injection of lipase - an extreme case for regulation in non-surgical cosmetic procedures. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg*. 2010;63(1):e6-e8.
13. Navarro MA, Arbonés JM, Acín S, et al. Animales de experimentación utilizados como modelos en la investigación de la arteriosclerosis. *Clínica e Investig en Arteriose/er*. 2005;17(2):82-93.
14. Santos M, Valverde C, Lemos P, Takimura C, Kekris I. Células Madre de Tejido Adiposo y la Importancia de la Estandarización de un Modelo Animal para Experimentos Preclínicos. *Bras Cardial Invasiva*. 2013;21 (3):4-5.

15. Sáenz Medina J, Asuero De Lis MS, Correa Gorospe C, et al. Modelos experimentales para la investigación y el entrenamiento en trasplante renal. *Actas Urológicas Españolas*. 2008;32(1).
16. Chen Y-J, Liu H-Y, Chang Y-T, et al. Isolation and Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells from Porcine Subcutaneous Adipose Tissues. *J Vis Exp*. 2016;(109):1-10.
17. Smith AC, Swindle MM. Preparation of swine for the laboratory. *JAR J*. 2006;47(4):358-363.
18. Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ, Frazier KS. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. *Vet Pathol*. 2012;49(2):344-356.
19. Castaño García A, Moriscot Gazules D. Técnicas inyectivas en el tratamiento de la obesidad y celulitis. *Univ Autònoma Barcelona*. 2009;14-18.
20. Madh S. *Aesthetic Mesotherapy*.; 2008.
21. Clínica Image. <https://www.clinicaimage.com/es/liporeduccion.php>. 01.12.2018.
22. A.M. R, H. S, R.L. M, M.S. K. Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution. *Dermatologie Surg*. 2004;30(7):1001-1008.
23. G. Marx, T. Horn, J. Thielebein, B. Knubel E von B. Analysis of pain related vocalization in young pigs. *J Sound Vib*. 2003;266(3):687-698.



24. French E. Assessment of pain in laboratory animals. *Present 2000 Natl AALAS Meet San Diego*. 2000.
25. Daniel M. Weary, Leah A. Braithwaite OF. Vocal response to pain in piglets. *Appl Anim Behav Sci*. 1998;56(2):161-172.
26. M. Michael Swindle ACS. *Swine in the Laboratory*.; 2015.
21. Paul Flecknell AWP. *Pain Assessment in Animals*.; 2000.
28. ACUC guidelines for administration of analgesics & anxiolitics. Recognition and assessment of pain, stress & distress in laboratory animals. *Virginia Univ*. 2007:1-7.

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.

José Carlos Canseco Cavazos

Candidato para el Grado de

Subespecialista en Cirugía Plástica, Estética, y Reconstructiva

Tesis: EFECTO DE LA LIPASA EXÓGENA SOBRE EL TEJIDO ADIPOSEO SUBCUTÁNEO EN UN MODELO ANIMAL PORCINO.

Campo de estudio: Ciencias de la Salud.

Biografía:

Datos Personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 29 de Enero de 1983, hijo de José Ignacio Canseco Villarreal y Dorasyllvia Cavazos Videgaray.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina, grado obtenido Medico Cirujano y Partero en 2009.

Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" grado obtenido de Especialista en Cirugía General en 2016.

Residente de la subespecialidad de Cirugía Plástica, Estética, y Reconstructiva, en la Universidad Autónoma de Nuevo León, Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" , de Marzo 2016 a Febrero 2019.

EFFECTO DE LA LIPASA EXÓGENA SOBRE EL TEJIDO  
ADIPOSO SUBCUTÁNEO EN UN MODELO ANIMAL  
PORCINO.

Por

DR. JOSÉ CARLOS CANSECO CAVAZOS

Como requisito para obtener el grado de  
Subespecialista en  
CIRUGÍA PLÁSTICA, ESTÉTICA, Y RECONSTRUCTIVA

Asesor: Dr. Iram Zeyn González Vargas

Diciembre 2018